Aus der chirurgischen Klinik der Universität Bern
Direktor: Prof. Dr. med. K. Lenggenhager

Ueber die Herstellung tierischer Glucosetrockensera, zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der Blutgruppenverhältnisse beim Rind und Schwein usw.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Würde eines Doctor medicinae
der Universität Bern

vorgelegt von

FRITZ GÜNTHER
von Thörigen (Bern)

Langnau 1943

Buchdruckerei Vögeli & Moser AG.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547621_0094

Aus der chirurgischen Klinik der Universität Bern
Direktor: Prof. Dr. med. K. Lenggenhager

Ueber die Herstellung tierischer Glucosetrockensera, zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der Blutgruppenverhältnisse beim Rind und Schwein usw.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Würde eines Doctor medicinae
der Universität Bern

vorgelegt von

FRITZ GÜNTHER
von Thörigen (Bern)

Langnau 1943

Buchdruckerei Vögeli & Moser AG.

Auf Antrag des Herrn Prof. Dr. K. Lenggenhager von der medizinischen Fakultät zum Druck als Dissertation genehmigt.

Bern, den 28. Oktober 1942.

Der Dekan der medizinischen Fakultät:
Prof. A. von Muralt

R. UNIV
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Inhaltsverzeichnis

Seite

Einführung und Historisches 5

ERSTER TEIL

Blutgruppe bei einigen Tiergattungen 8

I. Schwein 8

II. Rind 12

III. Schaf 18

IV. Pferd 19

Besprechung und Vergleich bekannter und eigener Ergebnisse 20

ZWEITER TEIL

Herstellung und Verhalten von tierischen Glucosetrockensera 23

a. Einleitung 23

b. Technisches 24

I. Schweineglucoseserum 24

II. Kälberglucoseserum 26

III. Rinderglucoseserum 29

DRITTER TEIL

Versuche am Tier 42

Zusammenfassung 43

Literaturangaben 44

Ueber die Herstellung tierischer Glucosetrockensera, zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der Blutgruppenverhältnisse beim Rind und Schwein usw.

Einführung.

Ausgang der vorliegenden Arbeit bot die bei Versuchen mit Menschen- und Tierblut gemachte Beobachtung Prof. Lenggenhagers, dass beim Zusammenbringen von Menschenblut mit Rinderserum in einem Falle die erwartete Agglutination nicht eintrat. Es erhob sich nun die Frage, ob dieses Verhalten in der Gattung Rind und andern Tiergattungen mehr als zufällig ist. Die Aufgabe war also, in systematischen Untersuchungen das Verhalten tierischer Sera gegenüber menschlichem Blut zu beobachten und bei gehäuftem Vorkommen obigen günstigen Resultates die weiteren Eigenschaften der so gefundenen Tiersera zu untersuchen.

Im ersten Teil der Arbeit sollen also folgende Punkte abgeklärt werden.

1. Verhalten von Tiersera resp. Blut gegenüber den r. Bl. K. der 4 menschlichen Blutgruppen.
2. Ist die Aufstellung von, wie beim Menschen bekannten analogen, Blutgruppen bei Tieren möglich.
3. Vergleich und Folgerungen aus 1 und 2.

Historisches zur Anwendung tierischen Blutes und Serums am Menschen.

Aus Berichten über die Transfusion von Tierblut auf den Menschen aus früheren Jahrhunderten können wir entnehmen, dass dabei als Spender meistens das Schaf verwendet wurde. Die Ergebnisse verliefen nicht immer im erwarteten Sinne, wie wir aus den spärlichen Quellen entnehmen können, dabei war aber die Transfusionstechnik schon recht gut entwickelt.

In Frankreich machte Denis 1667 die ersten Schaf-Mensch-transfusionen, später in England andere Aerzte auch, offenbar mit einigem Erfolg. Missglückte Versuche und besonders die gefährlichen Nebenerscheinungen liessen aber bald die weitere Ausführung in Frankreich unterbleiben.

Erst im 19. Jahrhundert erfolgte eine Wiederaufnahme der Transfusionsversuche, mit aber viel genauerer wissenschaftlicher Fragestellung, was damit einer weiteren Verwendung von Tierblut ein Ende bereitete, ohne dass von der Existenz von Blutgruppen noch etwas bekannt war. Seit 1894 wurde dann die Therapie mit Tiersera in grossem Umfange aufgenommen, wobei man in ca. 10 % der Fälle bemerkte, dass gewisse Krankheitserscheinungen auftraten, die man mit Recht als Reaktion auf das artfremde, parenteral einverleibte Eiweiss des tierischen Serums zurückführte. Diese von Pirquet als Serumkrankheit bezeichneten Erscheinungen traten unterschiedlich auf, je nachdem es sich um eine erstmalige oder wiederholte Einverleibung handelte. Die Erscheinungen selbst bestanden aus dem sogenannten Serumexanthem, Fieber, Drüsenschwellungen, Oedemen und Gelenkschmerzen, um nur die auffälligsten zu nennen. Nach der Reinjektion traten sie in wesentlich höherem Prozentsatz auf und meist viel stürmischer.

Anfangs des 20. Jahrhunderts führten dann die Untersuchungen Landsteiners zur Aufstellung von 4 menschlichen Blutgruppen, die auf Grund der agglutinogenen Eigenschaften r. Bl. K. und den in den Sera enthaltenen Agglutinine möglich war.

Die Fähigkeit der menschlichen r. Bl. K. durch menschliche Sera agglutiniert werden zu können wird durch die Bezeichnung A und B ausgedrückt, was folgende Kombination ergibt:

1. A und B fehlen in den r. Bl. K.: Gruppe O I.
2. Nur A ist in den r. Bl. K.: Gruppe A II.
3. Nur B ist in den r. Bl. K.: Gruppe B I II.
4. A und B sind in den r. Bl. K.: Gruppe A B IV.

Nach Landsteiner besteht die konstante Gesetzmässigkeit, dass die Agglutinine Anti A (a) und Anti-B (b) immer dann im Serum enthalten sind, wenn das entsprechende Agglutinogen A oder B den r. Bl. K. fehlt und umgekehrt.

Die r. Bl. K. von Gruppe O (I) sind danach nicht agglutinabel, dafür sind in ihrem Serum die Agglutinine a b gegen die r. Bl. K. der Gruppen II—IV.

Die r. Bl. K. der Gruppe A (II) werden durch die Sera von I und III agglutiniert, das in ihrem Serum enthaltene Agglutinin b agglutiniert Gruppe II und IV.

Dir r. Bl. K. der Gruppe B (III) werden durch die Sera von I und II agglutiniert, ihr das Agglutinie a enthaltende Serum agglutiniert II und IV.

Die r. Bl. K. der Gruppe AB (IV) werden durch die Sera von I, II, III agglutiniert, da aber ihrem Serum Agglutinine fehlen, erfolgt gegen Gruppe I—III keine Agglutination.

Schematisch lassen sich diese Resultate so darstellen:

Serum mit d. Agglutininen	Rote Bl. K. mit Agglutinogenen			
	I O	II A	III B	IV AB
I $\alpha\,\beta$	—	+	+	+
II β	—	—	+	+
III α	—	+	—	+
IV O	—	—	—	—

ERSTER TEIL

Blutgruppen bei einigen Tiergattungen.

I. Schwein:

A. Aus der Literatur Bekanntes.

Wie aus dem Handbuch der Blutgruppenkunde (1), Herausgeber Dr. Paul Steffan zu entnehmen ist, lassen die recht mangelhaften Untersuchungen an einigen 100 Tieren folgende 3 Gruppen aufstellen:

1. Tiere mit agglutinablen r. Blutkörperchen.
2. Tiere mit Agglutinin für 1.
3. Tiere die weder agglutinable r. Bl. K. noch Agglutinin besitzen.

Im allgemeinen soll die Agglutination langsam auftreten. Das Agglutinogen d. r. Bl. K. soll eine gewisse Uebereinstimmung mit dem der menschlichen Erythrocyten A haben. Das im Schweineserum vorkommende Agglutinin lässt sich konstant und vollständig vom menschlichen A-Blut absorbieren, während B- und O-Blut das nicht können, dagegen können die Schweine Bl. K. das menschliche Agglutinin Anti-A nur inkonstant und unvollständig absorbieren.

Nach Witebsky (2) existiert in den Bl. K. von Schweinen ein Rezeptor (- Agglutinogen), der mit dem menschlichen A nicht identisch ist, sondern nur einige Komponenten mit diesem gemeinsam hat.

Hirszfeld und Haller (3) konnten Schweineblut in O und A differenzieren, wobei A einige Relationen zum menschlichen A aufweist, aber nicht identisch ist.

Aus Marek (8) lässt sich entnehmen, dass die Bl. K. des Schweins verschiedene Agglutinogene und die Sera verschiedene Agglutinine haben, daneben aber einige diese Eigenschaften vermissen lassen. Es lassen sich also die Isoagglutination und später die Isohämolyse wie beim Menschen beobachten. Wenn wir die 4 menschlichen Blutgruppen als $O\alpha\beta$; $A\beta$; $B\alpha$; ABo darstellen,

so ergeben die Untersuchungen am Schwein sowohl Oαβ; Aβ; Bα; AB o und deren Untergruppen selbständiger Art O o; Oβ; A o; Bo.

Aus einer Arbeit von Schermer lässt sich die Aufstellung von 3 Gruppen entnehmen, deren Struktur lautet
A o; Oα; O o; also

1. Agglutinable r. Bl. K. A.

2. Vorhandensein von Agglutinin Anti-A.

3. Weder Agglutinogen noch Agglutinin haltiges Blut.

Schematisch zeigt sich das Agglutinationsergebnis folgendermassen:

r. Bl. K.	Serum mit Agglutinin		
	1.	2.	3.
1. A	—	+	—
2. O	—	—	—
3. O	—	—	—

Die Reaktionen waren beim Schweineblut sehr deutlich zu erhalten und stets schemagemäss. Zu Gruppe 1 wurden 35 %; zu Gruppe 2 55 %, zu Gruppe 3 10 % gefunden. Heteroagglutinationen mit Pferde-, Schaferythrocyten verliefen sehr eindeutig und aktiv.

B. **Eigene Untersuchungen:**

Mit einer Reihe aus dem Schlachthof Bern zur Verfügung stehenden Blutes von Schweinen, deren Serum durch Abzentrifugierung gewonnen wurde, ergaben sich in Reaktion mit menschlichem Blut aller 4 Gruppen folgende Resultate:

Nr. d. Schweineserum	Menschliches Blut der Gruppen:			
	Oαβ	Aβ	Bα	ABo
I	+			+
II	+			+
III	+			+
IV	+			+
V	(+)			+
VI	+			+
VII	+			+
VIII	+			+
IX	(+)	(+)	+	+
X	+	(+)	+	+
XI	+	(+)	+	+
XII	+	(+)	+	+
XIII	+	(+)	+	+
XIV	+	+	+	+
XV	+	(+)	+	+
XVI	+	(+)	+	+
XVII	(+)	+	+	+
XVIII	+	+	+	+
XIX	+			+
XX	(+)			+
XXI	+			+
XXII	+			+
XXIII	+			+
XXIV	+			+
XXV	(+)			+
XXVI	(+)			+
XXVII	+			+
XXVIII	+			+
XXIX	+			+
XXX	+			+

+: deutliche Agglutination sofort nach Zusammenbringen von Serum und Blut.
(+): weniger deutliche Agglutination.

Gegen A und B Blut wurden nicht sämtliche Sera ausgetestet, das Resultat wäre, wie bei AB ersichtlich, wohl auch eine Agglutination gewesen.

Ergebnis: Sämtliche 30 Schweinesera agglutinierten die menschlichen Erythrocyten, was ein Vorhandensein von Agglutininen im Schweineserum beweist, die gegen alle 4 menschlichen Gruppen gerichtet sind.

Es wurde dann ein Gegenversuch gemacht, indem Schweineblut mit menschlichem Nativserum der 3 Gruppen O, A, B, zusammen gebracht wurde, um zu erfahren, ob die menschliche Agglutinine ähnlich, wie die des Schweines, gegen deren r. Bl. K. gerichtet sind.

Nr. d. Schweineblutes	Menschliche Nativsera der Gruppen		
	O: $\alpha\beta$	A: β	B: α
IX	+	+	+
X	+	+	+
XI	+	+	+
XII	+	+	+
XIII	+	+	+
XIV	+	+	+
XV	+	+	+
XVI	+	+	+
XVII	+	+	+
XVIII	+	+	+
XIX	+	+	+
XX	+	+	+
XXI	+	+	+
XXII	+	+	+
XXIII	+	+	+
XXIV	+	+	+
XXV	+	+	+
XXVI	+	+	+
XXVII	+	+	+
XXVIII	+	+	+
XXIX	+	+	+
XXX	+	+	+

Die eindeutig verlaufenden starken Agglutinationen zeigen, dass die im menschlichen Nativserum, im Gegensatz zu den Standardsera, gar nicht so stark vertretenen Agglutinine genügten, um sämtliche Schweineblutproben zu agglutinieren. Die Agglutinationen traten ebenso rasch auf wie wir es von den menschlichen Verhältnissen her gewohnt sind zu sehen.

Diese wenigen Versuche zeigen immerhin, dass wir beim Schwein ein ähnliches Vorkommen von Agglutininen und Agglutinogenen wie beim Menschen antreffen, aber so, daß im gleichen Blut Agglutinin gegen alle 4 menschlichen Gruppen vorhanden ist, wie auch Agglutinogen für alle menschlichen Agglutinine. Dieses Verhalten lässt sich wahrscheinlich nur aus der Heterogenität dieses Tierblutes erklären.

II. Rind:

a) **Literaturangaben:** nach Steffan (1) soll sich beim Rind keine sichere Gruppierung aufstellen lassen. Andere Autoren fanden aber öfters Interagglutination und Hämolyse, wenn Erythrozyten und Serum von verschiedenen Rindersippen zusammenkamen. Es sollen so 2 Gruppen vorhanden sein, eine grössere mit inagglutinablen r. Bl. K. und Agglutinin für die kleinere Gruppe, der selbst Agglutinine fehlen.

Nach Brokman (4) absorbieren Rindererythrocyten regelmässig Anti-B von Menschenserum, obgleich keine Agglutination stattfindet, was wohl auf eine Unterempfindlichkeit der r. Bl. K. diejenige Menge Agglutinin je r. Bl. K. zu absorbieten, die zur Agglutination nötig ist beruht; während eine grössere Menge Blut die Anti-B gut absorbieren kann. Ottenberg und Friedemann (5) stellen folgende 3 Gruppen auf:

1. Das Serum enthält Agglutinin für die **2.** Gruppe, deren Blut kein Agglutinogen enthält. Die **3.** Gruppe enthält sowohl Agglutinin wie auch Agglutinogen.

Hirszfeld und Haller (6) fanden, dass häufig menschliches Anti-B gebunden wird durch die Rindererythrocyten. Witebsky (7) sah sowohl in r. Bl. K. des Rindes wie im Serum Agglutinogen resp. Agglutinin, die für das Rind und die menschliche Gruppe A identisch sind. Diese Eigenschaft soll sich beim Rind aber nur gruppenweise finden, also nicht bei allen.

Nach Marek (8) kommen auch beim Rind die 4 menschlichen Gruppenverhältnisse in der Anordnung:

Oαβ; Aβ; Bα; AB o vor, daneben die selbständigen Untergruppen O o; Oβ; A o; B o.

Schermer (9), der eine grosse Anzahl von Untersuchungen vornahm, schreibt über die Isoagglutinationsverhältnisse der Rinder folgendes:

Anwesenheit der Gruppen A o, Oα, O o wie beim Schwein. Weitere Untersuchungen bestätigen aber diese Annahmen nicht, was vielleicht bei der grossen Verschiedenheit innerhalb der gleichen Gattung auf ein Fehlen der A oder anti-A haltigen Gruppe zurückzuführen ist. Die Heteroagglutination mit Pferde-, Schweine-, Schafblut verlief immer deutlich.

Wir können aus obigen Ergebnissen eigentlich kein einheitliches Bild über die Gruppenverhältnisse beim Rind gewinnen.

C. **Eigene Ergebnisse:**

Für diese Untersuchungen wurde wieder gleich vorgegangen wie beim Schwein.

Das frisch gewonnene Tierblut wurde 10 ' zentrifugiert zur genauen und möglichst ergiebigen Abtrennung des Serums von d. r. Bl. K. Das Serum wurde dann abgehebert und in besondere Röhrchen gebracht. Mit dem so gewonnenen Serum und Blut wurden folgende 4 Versuche vorgenommen:

1. Menschenblut A — Rinderserum

2. Menschenblut B — Rinderserum

3. Menschentestserum anti-A — r. Bl. K. d. Rinder

4. Menschentestserum anti-B — r. Bl. K. d. Rinder

Nach Zusammenbringen von Blut und Serum auf dem Objektträger wurde das Ganze einige Male hin- und her gekippt, um eine gute Durchmischung zu erhalten.

Da die Versuche **1.** und **2.** praktisch wohl nie eine Rolle spielen werden, sondern nur wissenschaftlich ein Interesse bieten, wurden sie weniger eingehend vorgenommen als **3.** und **4.**, die sowohl mit Rinder-, wie auch mit Kälberblut (auch als Angehöriges der Gattung Rind) durchgeführt wurden.

Nr. d. Rinds-blutes (d. h. r. Bl. K.)	Menschl. Nativsera der Gruppen			Menschl. Testsera	
	O	A	B	Anti A	Anti-B
	$\alpha\beta$	β	α	β	α
I	(+)	(+)	(+)	+	+
II	(+)	(+)	(+)	+	+
III	(+)	(+)	(+)	+	+
IV	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
V	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
VI	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
VII	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
VIII	(+)	(+)	(+)	+	+
IX	(+)	(+)	(+)	+	+
X	(+)	(+)	(+)	+	+
XI	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
XII	(+)	(+)	(+)	+	+
XIII	(+)	(+)	(+)	+	+
XIV	(+)	(+)	(+)	+	+
XV	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)

Die Agglutinationen mit menschlichen Nativsera waren z. T. schwächer als mit Testsera wohl wegen des Agglutinin titers, aber das Gesamtresultat war eine Agglutination aller verwendeten r. Bl. K. der Rinder. Es zeigt dies, dass die mehr oder weniger grosse Deutlichkeit der Agglutinationen sicher auch von den Qualitäten der daran beteiligten Agglutinogene und Agglutinine abhängig ist.

Die Umkehrung der reagierenden Blutbestandteile, also Rindserum gegen Menschenblut aller 4 Gruppen ergab nachstehende Resultate:

(siehe Tabelle folg. Seite)

Nr. d. Rinderserum	Menschliches Blut der Gruppen				
	Oαβ	Aβ	Bα	AB o	
I	(+)	+	(+)	+	
II	(+)	+	+	+	
III	(+)	+	+	+	
IV	(+)	+	+	+	
V	(−)	(+)	(+)	+	+
VI	(+)	(+)	(+)	+	(+)
VII	(+)	+	(+)	+	(+)
VIII	(+)	+	(+)	+	(+)
IX	(+)	(+)	(+)	+	(+)
X	(+)	(+)	(+)	+	(+)
XI	(+)	(+)	(+)		(+)
XII	(+)	(+)	(+)	(+)	
XIII	+	(+)	(+)	(+)	
XIV	+	(+)	+	+	
XV	+	+	+	+	
XVI	+	(+)	+	+	
XVII	(+)	+	+	+	
XVIII	(+)	+	+	+	
XIX	+	+	+	+	
XX	+	+	+	+	
XXI	+	(+)	+	(+)	
XXII	+	(+)	+	+	
XXIII	(+)	+	+	(+)	
XXIV	+	+	+	(+)	
XXV	+	+	+	+	

Es ist nach obigen Ergebnissen anzunehmen, dass auch im Rinderserum genügend Agglutinine vorhanden sind, um die Blutkörperchen aller 4 menschlichen Gruppen zu agglutinieren.

Um auch den Einfluß der Alterung in obigen Untersuchungen etwas zu betrachten, wurden die in der 2. Kolonne unter A B stehenden Agglutinationen mit Rinderserum, das 24 und menschlichem A B-Blut, das 48 Stunden gestanden war, vorgenommen.

Rinderserum Nr. XX—XXV in der Austestung gegen A B war 24 Stunden alt, das A B Blut ebenfalls. Die schwächeren Agglu-

tinationen die z. T. auftraten sind wohl die Folge einer Abnahme der Agglutinationsfähigkeit durch Alteration der Agglutinine und Agglutinogene. Es ist anzunehmen, dass das in die Gattung Rind gehörende Kalb diesem analoge Verhältnisse bietet, dennoch war es interessant zu erfahren, ob die Agglutinationsstärke bei diesen jungen Vertretern auch schon voll ausgebildet sei. Es bestände ja eventuell die Möglichkeit, dass der Agglutinintiter im Serum von Kälbern noch nicht so hoch ist, wie im ausgereiften Tier.

Resultate:

Nr. d. Kälberserum	Menschliches Blut der Gruppen			
	O$\alpha\beta$	Aβ	Bα	AB o
I	—	(+) V	(+)	(+) V
II	+	(+)	(+)	(+)
III	—	(+) V	(+) V	(+)
IV	—	(+)	(+)	(+) V
V	—	(+)	(+)	(+) V
VI	—	(+)	(+)	+ V
VII	—	(+)	— (—)	—
VIII	(+)	(+) V	(+) V	(+)
IX	(+)	(+)	(+)	(+)
X	+	(+)	(+)	+
XI	(+)	(+)	(+)	+
XII	+	(+)	(+)	(+)
XIII	(+)	(+)	+	+
XIV	(+)	(+)	(+)	+
XV	(+)	(+)	(+)	+
XVI	(+)	(+)	(+)	+
XVII	(+)	+	+	+
XVIII	+	(+)	+	+
XIX	+	(+)	+	+
XX	+	(+)	(+)	(+)
XXI	(+)	+	(+)	(+)
XXII	(+)	(+)	(+)	+
XXIII	(—)	(+)	(+)	+
XXIV	(+)	+	(+)	(+)
XXV	(+)	(+)	(+)	+

Auffällig sind die negativen Ergebnisse einiger Kälbersera gegen O-Blut, vereinzelt gegen B und AB. Auch die übrigen Agglutinationen sind grösstenteils eher schwach und bei (+) V soll eine deutliche Verzögerung im Zustandekommen der Agglutination angedeutet sein.

Mit einigen Kälbersera wurde der Einfluss der Alterung auf die Stärke der Agglutination geprüft.

Nr. des K. Serums 3×24 Stunden alt	Menschliches Blut der Gruppen			
	O α β	A β	B α	AB o
III	+	(+)	(+)	(+)
IV	(+)	(+)	(+)	(+)
V	(+)	(+)	(+)	(+)
VI	(+)	(+)	(+)	(+)
VII	(+)	(+)	(+)	(+)
VIII	(+)	(+)	(+)	(+)

Die Agglutinationen waren alle vorhanden, immerhin ziemlich schwach und ein überzeugender Einfluss der Zeit auf die Stärke der Agglutinine im Sinne einer Abschwächung konnte nicht sichtbar gemacht werden.

Die Reaktionen zwischen r. Bl. K. der Kälber und menschlicher Sera z. T. Standardsera waren bei einigen ausgewählten Versuchen:

Nr. d. Kälberblutes	Menschl. Nativsera der Gruppen			Menschl. Standardsera	
	O α β	A β	B α	Anti-Aβ	Anti-Bα
IX	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
X	(+)	(+)	(+)	(+)	(—)
XI	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
XII	(+)	+	(+)	(—)	(+)

Nr. d. Kälberblutes	Menschl. Nativsera der Gruppen			Menschl. Standardsera	
	O: $\alpha\beta$	A β	B α	Anti-Aβ	Anti-Bα
XIII	(+)		(+)	(—)	(+)
XIV	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
XV	(+)	(+)	+	(+)	(+)
XVI	(+)	(+)	+	(+)	(+)
XVII	(+)	+		(+)	(+)
XVIII	(+)	(+)	(+)	(—)	(+)
XIX	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
XX	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
XXI	(+)		(+)	(+)	(+)
XXII	(+)	+	(+)	(+)	(+)

Die Stärke der Standardsera wurde überzeugend an Menschenblut vorher geprüft. Die Nativsera wurden ebenfalls gegen Menschenblut geprüft und die dabei erhaltenen Agglutinationen entsprachen etwa oben angeführten (+) Agglutinationen. Die (—) Resultate können also ganz gut wegen zu geringer Anwesenheit von Agglutininen zu Stande gekommen sein.

3. Schaf.

a) **Literaturangaben:** Nach Untersuchungen polnischer Autoren [Witebsky (2), Haller u. Hirszfeld (3 u. (6)] sollen sich beim Schaf 3 Gruppen vorfinden, die analog wie beim Menschen gekennzeichnet werden als O, A, B. Die r. Bl. K. von B wurden nur schwach agglutiniert. Auch soll Hammelblut A das Anti-A der menschlichen O-Gruppe agglutinieren, was aber nicht für eine Identität von Schaf- und Menschenblut spricht. Schafblut A kann nicht vollständig alles anti-A des Menschen entfernen.

Marek (8) findet auch beim Schaf die menschlichen Gruppenverhältnisse O $\alpha\beta$, A β, B α, A B o vor; daneben wieder die selbständigen Untergruppen O o, O β, A o, B o.

Schermer (9) gibt Folgendes an über Gruppenbildung beim Schaf: 3 Gruppen wie beim Schwein.

1. A o also Bl. K. A ohne Agglutinin.
2. O α Bl. K. O mit anti-A
3. O o Bl. K. O mit keinem Agglutinin.

Schematisch würde das Bild so aussehen:

r. Bl. K.	Serum		
	1. O	2. α	3. O
1. A	—	+	—
2. O	—	—	—
3. O	—	—	—

Gruppe 1 enthält 44 %
Gruppe 2 enthält 25 %
Gruppe 3 enthält 31 % aller untersuchten Schafe.

6. Eigene Untersuchungen konnten wegen Mangel an genügend Schafblut nicht angestellt werden.

4. Pferd.

a) **Literaturangaben:** Die Untersuchungen der Gruppenverhältnisse am Pferd werden erschwert durch die ausgeprägte Tendenz des Pferdeblutes Geldrollen zu bilden. Hirszfeld (10) stellte 1924 als Erster eine Gruppierung wie beim Menschen auf. Die als A bezeichnete Gruppe umfasste mehr als die Hälfte der untersuchten Tiere; ca. 15 % gehören zu Gruppe B und der Rest wurde als O bezeichnet. Agglutinin fand sich nicht regelmässig wo es nach der Gruppe erwartet würde, so fand sich anti-B in der A Gruppe nur in 10 % der Fälle; anti-A in der B Gruppe in 60 %; Anti A und anti-B in der O-Gruppe fast regelmässig. Der Agglutinintiter war aber durchwegs niedriger als beim Menschen.

Schwarz (11) fand, dass Zitratplasma besser geeignet sei zum Agglutinationsnachweis als Serum. Die Agglutination war schwächer und trat langsamer auf als beim Menschen. Die meisten Tiere wurden nach ihm in die Gruppen A u. B eingeteilt.

Schermer (9) gibt als Ergebnis seiner Untersuchungen an, 4 Gruppen vorgefunden zu haben und zwar:

Gruppe O : 18 %
„ A : 44 %
„ B : 18 %
„ AB : 4 %

16 % konnten in keine der 4 Gruppen eingeteilt werden. Immerhin hat sich später bei genauerer Technik gezeigt, dass alle Tiere dieser Gattung in die 4 obigen Gruppen eingeteilt werden können.

Das Anti-B Agglutinin ist oft so schwach, dass es nicht nachgewiesen werden konnte. Anti-A liess sich dagegen immer nachweisen.

Neuere Untersuchungen (Marek 8) geben sogar das Vorhandensein von 7 Gruppen beim Pferde an, unter denen aber A und B prozentual dominieren.

b) Auch beim Pferd war es mir aus Mangel an Material nicht möglich, eigene Untersuchungen anzustellen.

Besprechung der aus vorliegenden Literaturangaben und eigenen Untersuchungen gewonnenen Ergebnisse.

a) **Literaturangaben:** Es gibt nach diesen Angaben bei Tieren innerhalb derselben Art in den r. Bl. K. Agglutinogene und im Serum Agglutinine wie beim Menschen. Das z. T. nicht präformierte Agglutinin kann durch Immunisierung mit gruppenspezifischen r. Bl. K. hervorgebracht werden.

Sind nun diese Agglutinogene d. r. Bl. K. und die im Serum vorkommenden Agglutinine identisch mit den beim Menschen bekannten?

Nach Landsteiner (12) gibt es nur beim Menschenaffen Rezeptoren, d. h. Agglutinogene, die mit den menschlichen identisch sind. Bei niederen Affenarten sind sie bereits nur noch A und B ähnlich, also nicht mehr identisch. Ebenso darf man bei den Agglutinogenen der oben untersuchten Säugetiere bloss von einer Aehnlichkeit der Agglutinogene sprechen. Die Begründung für die Aehnlichkeit und für den Unterschied liegt darin, dass tierische r. Bl. K. im Stande sind anti-B im menschlichen Serum (der O- und A-Gruppe) zu binden, entweder ganz oder nur bis zu einem gewissen Grad; andererseits können tierische Sera nicht selten menschliche r. Bl. K. der A resp. B Gruppe gruppenspezifisch agglutinieren, aber anti-B Agglutinin tierischer Sera können tierische r. Bl. K. der Gruppe B nicht agglutinieren, ebenso können letztere das für menschliche r. Bl. K. wirksame Agglutinin im tierischen Serum nicht oder nur geringgradig absorbieren. Auch die Anwesenheit von "B" ähnlichen Erythrocyten bei Tieren

und gleichzeitig von Anti-B für die menschlichen r. Bl. K. ist verwunderlich, wie auch, dass menschliches Anti-B von tierischen r. Bl. K. B nicht absorbiert wird und tierisches Anti-B nicht alle menschlichen r. Bl. K. B agglutiniert.

Der Unterschied kann zum Teil nur in quantitativen Beziehungen bestehen. Solche Verhältnisse können zustande kommen bei Anwesenheit tierischer Bl. K. mit Agglutinogenen, die identisch sind mit menschlichem "B", nur eben quantitativ geringer.

Schwache "B"-Erythrocyten werden von Seren, die reich an Anti-B sind spezifisch agglutiniert wie beim Menschen von den Gruppen O und A. Schwache Agglutinin Anti-B haltige Seren von Menschen oder Tieren werden schwache "B"-Erythrocyten häufig nicht agglutinieren, da offenbar die Bindung einer gewissen Menge von Anti-Stoff pro r. Bl. K. erforderlich ist für eine Agglutination.

Eine genaue Messung ist nötig, um die Prozesse näher zu untersuchen, bei nur qualitativen Proben lassen sich leicht Fehlschüsse ziehen.

Bei Schaf und Schwein findet sich eine A-identische Substanz in den r. Bl. K., die das menschliche Anti-A bindet, da sich aber die A-Substanz des Menschen aus mehreren Komponenten zusammensetzt (alkohollösliche und -unlösliche, als A 1 und A 2 bezeichnet) kann qualitativ zwischen den einzelnen Komponenten Identität oder besser Aehnlichkeit bestehen, obwohl die zwei Arten r. Bl. K. A als Einheiten sich verschieden verhalten.

Die Verhältnisse sind im allgemeinen noch wenig geklärt, da nicht sicher feststeht, ob in irgendeiner Art tierischer r. Bl. K. gruppenspezifische Rezeptoren vorkommen, die in den r. Bl. K. des Menschen nicht vorkommen.

b) **Eigene Versuche:** Die Ergebnisse der eigenen Versuche sind sehr eindeutig, trat doch beim Zusammentreffen von Schweine- oder Rinderserum mit den r. Bl. K. aller 4 menschlichen Gruppen mehr oder weniger starke Agglutination auf. Das heisst, im Serum eines einzelnen Tieres sind Agglutinine Anti-A, Anti-B aber auch Anti-O vorhanden, die mit den menschlichen Agglutinogenen in quantitativ günstigen Verhältnissen reagierend, immer Agglutinationen produzierten. Die weniger deutlichen Reaktionen sind, da die äusseren Verhältnisse bei allen Untersuchungen gleich bleiben, wahrscheinlich auf quantitative Unterschiede zurückzuführen.

Auch die umgekehrten Verhältnisse Tierblut mit menschlichen Nativ- und den höher titrierten Standardsera reagieren zu lassen, zeigten durchwegs deutliche Agglutinationen.

Nur die Versuche mit Kälbersera gegen menschliches Blut zeigten einige wenige Fälle ohne Agglutination, die vielleicht mit der noch ungenügenden Entwicklung von Agglutininen bei diesen jungen Tieren zusammenhängen mag. Die Umkehr der Versuche ergab bei den wenigen angestellten Untersuchungen wieder eindeutige Agglutinationen. Die Angaben der Literatur, die ja selbst ziemlich widersprechend und noch wenig geklärt sind, konnten von mir keineswegs bestätigt werden.

Der Grund warum die Untersuchungen so ausfielen ist wohl in der Heterogenität der daran beteiligten Stoffe zu suchen. Diese Heteroagglutinationen zwischen Mensch und Tier müssen nach unseren Kenntnissen von der Artspezifität der Eiweisskörper und anderen Stoffen erwartet werden.

Wir werden also in der Anwendung der tierischen Sera immer mit gefährlichen Zwischenfällen rechnen müssen. Wenn wir aber trotzdem das Problem solche Sera praktisch anwenden zu wollen weiterverfolgen, müssen durch geeignete Massnahmen diese schädlichen Einflüsse ausgeschaltet werden, ohne allerdings die wichtigsten Stoffe des Serums, also die Eiweisskörper, unbrauchbar zu machen. Einen, wie die weiteren Untersuchungen zeigen werden, gangbaren Weg wurde durch Prof. Lenggenhager in der Herstellung von Glucosetrockensera gefunden. Der nächste Teil soll sich mit dieser Aufgabe befassen.

ZWEITER TEIL

Herstellung und Verhalten von tierischem Glucosetrockensera.

Einleitung.

Durch z. T. physikalische, z. T. chemische Vorgänge sollen die tierischen Sera so beeinflusst werden, dass sie neben Verlierung ihrer Artspezifität weiter keine Veränderungen erleiden, sondern als physiologische Lösungen weiter existieren.

Wir wissen, dass die Artspezifität bedingt ist durch gewisse hitzeempfindliche Stoffe, die sich in der Globulinfraktion der Serumeiweisse findet. Eine Erhitzung der Sera würde also die Artspezifität vernichten, aber gleichzeitig leider auch die wertvollen Eiweisskörper irrevesibel in den Gelzustand verwandeln, in dem sie wertlos würden. Die genaue Temperaturgrenze, bei der die artspezifischen Stoffe wie Agglutinine, Hämolysine etc. zerstört werden kennen wir nicht, man nimmt an sie liegen bei 60—70°; bei 65° tritt aber bereits schon eine Denaturierung der Eiweisskörper auf. Daher würde ein Erhitzungsprozess, der die unerwünschten Stoffe ausschaltet, unweigerlich auch die begehrten Eiweisskörper nutzlos machen.

Nun ist aber bekannt, dass kristalloide Stoffe, in unserem Falle Glucose, die als Kolloide im Serum vorhandenen Eiweisse stabilisieren können d. h. vor Ausfällung schützen, ohne ihre biologische Aktivität wesentlich zu beeinträchtigen.

Die so gewonnenen Glucosera wurden durch Trocknung wie sich zeigen wird keineswegs weiter verändert, sondern behielten ihre Eigenschaften nach Auflösung bei. Ob der Trockenprozess eine wesentlich andere Bedeutung hat, als die Form der Glucosera zu verändern und sie damit als Pulver überall leicht anwendbar zu machen, wird sich in den nachfolgenden Untersuchungen zeigen.

1. Optimaler Glucosezusatz für eine maximale Stabilisation der Eiweisskörper.
2. Einfluss der Trocknung.
3. Verhalten der so gewonnenen Glucosetrockensera in der Hitze.

Technisches: Das nach Zentrifugierung gewonnene Tierserum wurde in gewöhnliche Reagenzröhrchen gefüllt. Dazu wurde von verschiedenen prozentigen Glucoselösungen einige ccm zugegossen. Die so gewonnene Glucoseserumlösung wurde in Schalen gegossen und im Brutschrank meist bei 37° zum Trocknen für längere und kürzere Zeit aufgestellt. Das erhaltene Trockenserum liess sich bei genügender Austrocknung pulverisieren.

Bevor die eigentlichen Untersuchungen beginnen, gebe ich noch einen Ueberblick über die Zusammensetzung verschiedener für die praktische Anwendung in Frage kommender Tiersera, wobei uns besonders der Eiweissgehalt interessiert. Nach Marek beträgt der Serumeiweissgehalt bei den grösseren Säugetieren 6—9 %. Der Eiweissquotient d. h. das Verhältnis $\frac{\text{Globuline}}{\text{Albumine}}$ soll 1,2—1,6 betragen.

Die Werte für den Blutzucker einiger Tiersera.

	Rind	Schwein	Schaf
Blutzucker in mgr. %	53—83	62—89	47—75

Nähere Angaben von Landois über die Zusammensetzung einiger Tiersera verglichen mit dem Menschen.

	Mensch	Rind	Pferd
Wasser %	90	91	90
Eiweiss %	7—9	7,2	8,4
Zucker mgr. %	60—100	105	117
Fett mgr. %	50— 80	92	130

1. Schweineglucoserum

Es wurde zunächst eine Serie von Trockensera des Schweins aufgestellt mit verschiedenen Gewichtsprozentsätzen von Glucose, die so erzielt wurden, dass verschieden prozentige Glucoselösungen angewandt wurden wie Spalte 4 zeigt.

Nr. des Serums	Serum-menge in ccm	Glucose-lösungs-menge in ccm	%-Gehalt d. Glucose-lösung	Verhältnis **Serum** — Glucose-lösung	Approxi-mat. Gew. % Gluc.
1	20	5	40	4:1	8
2	15	5	30	3:1	7,5
3	15	5	25	3:1	6,6
4	15	5	20	3:1	5
5	15	5	10	3:1	2,5
6	24	6	20	4:1	4
7	7,5	2,5	70	3:1	17,6
8	7,5	2,5	50	3:1	12,5

Diese Lösungen waren nach 24 Stunden vollständig trocken und konnten aus den Schalen als mehr oder weniger harte Massen herausgeschält werden.

Die weitere Prozedur bestand nun in der Auflösung dieser Trockensubstanzen indem der Wasserverlust, der durch Abwägen bestimmt werden konnte, ersetzt wurde.

Die Auflösung aller 8 Trockensera dieser Serie erfolgte relativ langsam aber vollständig.

Eine Filtrierung wurde vorgenommen, um eventuell von aussen dazugekommene Fremdkörper wie Staub etc. auszuschalten. Alle Lösungen hatten das normale hellgelbliche, klare Aussehen wie vor der Eintrocknung.

Sämtliche 8 Lösungen wurden nun der Hitzeeinwirkung unterworfen, um zu prüfen, ob die Eiweisskörper tatsächlich so stabilisiert seien, dass sie nicht mehr ausfallen. Die **klaren Filtrate 1—4** wurden im Wasserbade langsam auf 90° erhitzt, ohne dass eine Trübung durch Ausflockung eintrat, wohl trat aber eine Eindickung ein, wodurch die Viskosität der Lösungen zunahm. Das war immerhin schon ein Hinweis, daß das durch den Erwärmungsprozess verloren gegangene Wasser zugesetzt werden muss.

Mit **Lösung 5** wurden folgende Versuche angestellt. 2 ccm der Lösung + 1 ccm Wasser wurden auf der Flamme zum Sieden erhitzt und 2—3' kochend gehalten.

Es trat keine Ausfällung ein, dafür eine Caramelisierung von Glucose am Boden des Glases.

Die plötzliche Abkühlung unter dem Wasserstrahl ergab beim nachherigen Schütteln deutliche Flockenbildung. Vom gleichen

Glucoseserum weitere 2 ccm + 1,5 ccm Wasser und 2 ccm + 2 ccm Wasser zeigen beim Kochen keine Ausfällung beim Abkühlen wie oben eine Flockenbildung, aber weniger dicht und intensiv.

Wahrscheinlich hat der rasche Temperatursturz die doch noch labilen Eiweisskörper zum Ausfallen gebracht.

Mit **Lösung 6** wurden ähnliche Versuche angestellt. 2 ccm der Lösung ohne Wasserzusatz ergaben nach Kochen und plötzlichem Abkühlen nur deutliche Sirupbildung.

2 ccm + 1 ccm Wasser
2 ccm + 1,5 ccm „
2 ccm + 2 ccm „ gekocht und sofort abgekühlt.

Abnehmende Flockung mit zunehmender Verdünnung mit Wasser

Lösungen 7 und 8 zeigten starke Sirupbildung auch nach Zusatz von Wasser und wurden nicht weiter untersucht.

Diese wenigen Ergebnisse zeigten doch schon den Einfluss der Glucose und wahrscheinlich der Trocknung auf die Stabilität der Eiweisskörper bei Hitzeeinwirkung. Es ist aber noch zu untersuchen, welches von beiden wesentlicher ist, ob der blosse Glucosezusatz schon genügt, oder ob der Trockenprozess erst die Ursache der Stabilisierung ist.

2. Kälberglucoseserum

Mit dem Serum von Kälbern wurden ähnliche Versuche unternommen wie mit Schweineserum. Dabei waren die Sera nicht immer nur von einem einzelnen Tier, sondern auch Mischsera durch Zusammengiessen verschiedener. Das technische Vorgehen war wieder gleich wie oben beschrieben wurde.

Nr. des Serums	Serummenge in ccm	Glucoselösungsmenge in ccm	%-Gehalt d. Glucoselösung	Verhältnis **Serum** — Glucoselösung	Approximat. Gew. % Gluc.
1	7,5	2,5	40	3:1	10
2	7,5	2,5	50	3:1	12,5
3	7,5	2,5	60	3:1	15
4	7,5	2,5	70	3:1	17,5

Die Gew. % Glucose waren also bei diesen Lösungen höher als bei den oben untersuchten Schweineglucosesera. Wieder Ausgiessen auf Platten — 24 Stunden trocknen — Auflösen mit Wasser — Verdünnung durch weitere Wasserzugabe — Kochen:

Resultate:

Nr. des Glucose Serums	Menge d. Glucose-serumlös. in ccm	Z. Verdünnung zugesetztes Wasser in ccm	Kochdauer	Resultat nach Abkühlen-lassen	Bemerkungen
1	2	2	2'	keine Ausflockung	Die rötlich-gelbe Lösungsfarbe wird leicht grünlich opaleszierend
2	2	2			
3	2	2			
4	2	2			

Von 1—4 wurden ferner je 3 ccm in einen Erlenmeyerkolben zusammengegossen mit der gleichen Menge Wasser verdünnt und 2 ' gekocht — Resultat: Keine Ausflockung.

Diese gekochte Mischung wurde filtriert, worauf von den ursprünglich 24 ccm noch 13 ccm zurückblieben. Davon wurde eine neue Platte gegossen und nach 48 Stunden Trocknung aufgelöst. Die Lösung ergibt eine klare Flüssigkeit.

Eine weiter angestellte Untersuchungsreihe befasste sich mit dem Problem, den minimalen Gew. % Gehalt an Glucose der Sera herauszufinden, bei dem keine Ausflockung eintritt. Zu diesem Zwecke wurden gleiche Quantitäten Kälberserum + steigend konzentrierte Glucoselösungen zusammengebracht, um ansteigende Gew. %-sätze an Glucose zu erhalten, wie nachfolgende Tabelle zeigt.

Nr. des Serums	Menge d. Serum in ccm	Gew. % Glucose im Gluc. serum	Verdünnung d. Wasser-zusatz i. ccm	Kochdauer	Resultat nach Abkühlung
1	4	1/4	1		Massive Fällung
2	4	1/2	1		do.
3	4	1	1		do.
4	4	2	1		Trübung; Flockenb
5	4	3	1	2'	do. grobe „
6	4	4	1		weniger deutl. Trübung
7	4	5	1		do.; feinere Flocken
8	4	6	1		do. do.
9	4	7	1		feine Flocken

Das Resultat ist so zu bewerten, dass ein steigender Gehalt an Glucose einen vermehrten Schutz vor Ausfällung der Eiweisskörper bietet, wie zu erwarten war.

Es folgt nun eine weitere Serie von Versuchen mit Kälberglucose Serum, dessen spezifisches Gewicht dabei mitberücksichtigt wurde. Das normale spez. Gewicht des menschlichen Serums beträgt 1029—32, das der Kälber- und Rinderserums 1027, ein nur geringer Unterschied.

In dieser Serie soll der Faktor Zeit der eventuell beim Trokken-Glucoseserum eine Rolle spielt, besonders berücksichtigt werden. Es wurden wieder die üblichen Glucosesera hergestellt wie Tabelle zeigt. Dann wurde weiter so vorgegangen:

1. Das Glucosetrockenserum wurde unmittelbar nach der Herstellung gekocht.
2. Das Glucosetrockenserum wurde 24 Stunden im Reagenzrohr stehen gelassen und dann gekocht.
3. Das Glucosetrockenserum wurde auf eine Platte gegossen und 24 Stunden getrocknet.

1 und **2** werden ohne Trocknung gekocht und es wird beobachtet, wie sich die Eiweisskörper verhalten, ob eventuell schon durch die blosse Anwesenheit von Glucose eine Stabilisierung eintritt. Dabei wird **2** 24 Stunden lang stehen gelassen, um die eventuelle zeitliche Wirkung zu kontrollieren.

3 wird wieder als Trockenserum hergestellt. In der folgenden Tabelle sind von jeder Nummer, also 3 solche Lösungen hergestellt worden für obige Verfahren.

Nr. des Serums	Serum-menge in ccm	Glucose-lösungs-menge in ccm	Gew. % an Glucose	**Serum** Glucose-lösung	Spez. Gew.
1	5	5	7,5	1:1	1035
2	5	5	10	1:1	1041
3	5	5	12,5	1:1	1047
4	6,6	ad 10	7,5	2:1	1037
5	6,6	„ 10	10	2:1	1044
6	6,6	„ 10	12,5	2:1	1050
7	7,5	2,5	7,5	3:1	1037
8	7,5	2,5	10	3:1	1046
9	7,5	2,5	12,5	3:1	1052

Wir haben so 3 Gruppen von Glucoseserum die sich unterscheiden:

1. Verschiedene Verhältnisse $\frac{\text{Serum}}{\text{Glucoselösung}}$

2. Verschiedene spezifische Gewichte.

Die Gew.% an Glucose sind in jeder Gruppe gleich ansteigend.

Verhalten im Kochprozess

Nr. der Glucose-sera	1. Nach Herstellung 2 ' gekocht		2. 24 Stunden in Reagenzglas stehen gelassen		3. Nach 24 Stunden Trocknung		
	Sof. abk.	Abk. lassen	dann 2 ' gekocht	i. W'bad auf 95 ° erhitzt	aufg. u. filtriert	2 ' Kochen sof. abk.	2 ' Kochen abk. lassen
1	feine Flocken	Flocken	Massive Fällung	Massive Fällung	klare Lösung	Flocken	Flocken
2	do	do	do	do	do	do	do
3	gröbere Flockung	do	Flockung	Trübung	do	do	gröb. Flock.
4	Flocken	do	do	Massive Fällung	wenig trübe	do	do
5	do	do	do	do	getrübt	do	einige Flock.
6	do	do	do	do	wenig Flöcklein	do	do
7	do	do	do	do	do	do	do
8	do	do	do	do	do	do	do

Ergebnis: Kein wesentlicher Einfluss des Gew.% -gehaltes an Glucose. Auch die Verdünnung des Serums durch Wasser ändert an der Stabilität nichts.

Die getrockneten Glucosesera sind etwas stabiler als die ungetrockneten. Die langsame Erhitzung im Wasserbad ergab gegenüber dem Kochen auf der Flamme keine günstigen Resultate, eher gegenteilig. Auch zwischen sofort Abkühlung und langsamem sich Abkühlenlassen wurde kein Unterschied bemerkt.

Im Vergleich zu den Resultaten mit Schweineglucoseserum ist zu sagen, dass diese sich stabiler verhielten, womit wir natürlich über den Grund nichts aussagen können.

3. Rinderglucoseserum

Das Rind als Spender von Serum könnte praktisch die größte Rolle spielen. Mit dessen Serum wurden denn auch die ausgedehntesten Versuche unternommen.

Die nachfolgende Tabelle zeigt eine Reihe von mit verschiedenen Verhältnissen (unter Berücksichtigung der vorangegangenen Versuche mit Schweine- und Kälbersera) hergestellten Rinderglucosesera.

Nr. d. Serums	Serum-menge i. ccm	Gluc. lös.-menge i. ccm	% Gehalt d. Gluc. Lösung	Gew. % an Glucose	**Serum** Gluc. körp.	Bemerkungen	Trockenzeit
				I. Serie			
1	85	15	70	10,5	ca. 6:1	steril gewonnen	24 Stunden
2	7,5	2.5	60	15	3:1	Zur	
3	7,5	2,5	50	12,5	3:1	Herstellung	
4	7,5	2,5	40	17,5	3:1	von	
5	7,5	2,5	80	20	3:1	Platten	
				II. Serie			
6	8	2	50	10	4:1	Zur	24 Stunden
7	8	2	62,5	12,5	4:1	Erhitzung	
8	8	2	75	15	4:1	in	
9	8	2	87,5	17,5	4:1	Wasserbad	
10	8	2	warm ges. Lösg. ca. 100%	ca. 20	4:1	auf 80 %	
				III. Serie			
11	8	2	50	10	4:1	Zum	nicht getrocknet
12	8	2	62,5	12,5	4:1	Kochen	
13	8	2	75	15	4:1	auf der	
14	8	2	87,5	17,5	4:1	Flamme	
15	8	2	warm ges. Lösg. ca. 100%	ca. 20	4:1		
				IV. Serie			Spez.Gew.
16	160	40		11,5	4:1		1041
17	20	5		16	4:1		1048
18	2x24	2x6		7,5	4:1	1 Platte getr. f.	1044
19	2x24	2x6		10	4:1	sp. Tierversuche	1051
20	2x24	2x6		12,5	4:1	1 Platte läng. Zeit tr. gelegt. 2x24 St.	1056

Nr. d. Serums	Serum-menge i. ccm	Gluc. lös.-menge i. ccm	% Gehalt d. Gluc. Lösung	Gew. % an Glucose	Serum Gluc. körp.	Bemerkungen	Trockenzeit
				V. Serie			
21	8	2		0,25	4:1	Versuche	2×24 Stunden
22	8	2		0,5	4:1	zur Best.	
23	8	2		1	4:1	d. Glucose	
24	8	2		2	4:1	Konzentration	
25	8	2		3	4:1	u. Stabilität	
26	8	2		4	4:1	des Eiweiss	
27	8	2		4.5	4:1		
28	8	2		5	4:1		
29	8	2		6	4:1		
30	120	50		23,5	12:5	Zur Herstellung gröss. Mengen Trockenserum	Spez.Gew. 1067
31	120	30		16	4:1		1063
32	200	40		13,3	5:1		
33	180	50		17,4	ca 4:1		
34	150	26		10	„ 5,5:1		
35	100	18		10	„ 5,5:1		
36	8	Na Cl Lös 2		10	4:1	Kochsalzlösung	
37	8	2		15	4:1	z. Vergleich	
38	8	Gluc. 2		5	4:1	Nach 3 Tg. Trocknung aufgelöst gibt klare Lösung	3×24 Std
39	8	2		6	4:1		
40	20	nicht als Lösung		40			
41	20	sondern als		40			
42	23	Substanz		35			
43	26	beigefügt		30			

Nr. d. Serums	Serum-menge i. ccm	Gluc. lös.-menge i. ccm	% Gehalt d. Gluc. Lösung	Gew. % an Glucose	**Serum** Gluc. Körp.	Bemerkungen	Trockenzeit
44	54	15	70	15	ca. 4:1	Der Plattenboden wurde mit Paraffin ausgegossen	
45	35	15	70	20	7:3		
46	20	nicht als Lösung		40		Plattenboden mit Celloidin ausgegossen	8×24 Std.
47	15	sond. als Sub-		40			
48	12	stanz beigefügt		40			
49	35	7	70	10	5:1	Platte mit Paraffin ausgeg.	
50	35	7	70	12,5	5:1		

Weiteres Vorgehen mit diesen Glucosesera:

Nr. 1: wurde steril hergestellt und später zum Tierversuch verwendet.

I. Serie (Nr. 2—5): wurde nach 24 Stunden Trocknung weiter verwendet.

II. Serie (Nr. 6—10): wurde nach 24 Stunden Trocknung auf dem Wasserbad bis 80° erhitzt.

III. Serie (Nr. 11—25): wird im Wasserbad gekocht. In den Serien I—III finden wir ansteigende Konzentrationen an Glucose um die Resultate bei verschiedenen weiteren Vorgehen vergleichen zu können. Nr. 16 dient wieder zur Herstellung grösserer Mengen Trockenserum.

IV. Serie (Nr. 17—20). Mit Ausnahme von Nr. 17 wurden je 2 Platten getrocknet, wovon die eine 24 Stunden, die andere längere Zeit, um die Wirkung längerer Trocknung auf die Eiweißkörper zu erfahren. Dabei sind bei allen die recht hohen spezifischen Gewichtsangaben, die von den zugegebenen Glucosemengen über das normale spezifische Gewicht erhöht wurden. Die damit verbundene Hypertonie des Glucoseserums würde aber, wie von andern hypertonischen Lösungen genügend bewiesen ist, keineswegs schädlich sein in der praktischen Anwendung.

V. Serie (Nr. 21—29) ist wieder angelegt worden, um mit Rinderglucoseserum (von 0,25 Gew. % Glucosezusatz ansteigend bis 6 %) den Grad der Stabilisationswirkung festzulegen.

In Nr. 30—35 sind grössere Mengen Glucoseserum hergestellt worden, deren Gew. %-gehalt an Glucose ungefähr den vorherigen entspricht.

Nr. 36 und 37 sind zwei Kochsalz statt Glucose enthaltende Trockensera, sie dienen im weiteren Versuch dazu, die Wirkung des Kochsalzes mit der der Glucose zu vergleichen, weil anzunehmen ist, dass eine solche auch bestehen könnte.

Nr. 38 und 39 wurden statt 24 Stunden 3 Tage lang getrocknet, um dann wie üblich im Kochversuch geprüft zu werden.

Nr. 40—43 wurden technisch insofern etwas anders hergestellt, als statt Glucoselösung Glucose als Substanz dem Serum beigefügt wurde, ebenso Nr. 46—48.

Eine weitere technische Aenderung wurde bei **Nr. 44—50** angewandt. Es zeigte sich nämlich, dass der Trockenprozess die Glucoseserummasse an den Glasschalen so adhärent werden ließ, dass sie nur unter Verlust einer gewissen Menge davon abgelöst werden konnte. Um diesen Verlust herabzumindern wurden einige Platten mit hitzeverflüssigtem Paraffin, das dann bei Abkühlung erstarrte und so eine Schicht zwischen Glas und Serum bildete ausgegossen. Diese Paraffinschicht liess sich dann ideal aus der Glasschale herauslösen mitsamt der Glucosetrockenserummasse wurde sie später bei der Erhitzung wieder flüssig und konnte nach Abkühlung gut vom Glucoseserum getrennt werden. Aehnliche Versuche wurden bei Nr. 46—48 mit Celloidin gemacht.

Wir betrachten nun wieder die eigentlichen Versuche:

Nr. des Gluc. serums	Gluc. serum in ccm	Zusätzl. Wassermenge in ccm.	Kochdauer	Abkühlen lassen	Behandlung mit Salpetersäure
2. 15 %	2	0	2′	Flocken	
	2	1		do.	
	2	1,5		Flockenhart an	
	2	2		der Oberfläche	stark gelbl. Trübung
3. 12,5 %	2	0	2′	1 grosser Flocken	
	2	1		mehr gr. Flocken	
	2	2		1 grosser Flocken	milchige Fällung
4. 17,5 %	2	0		1 grosser Flocken	keine Veränderung mit
	2	1		do.	Trichloressigsäure:
	2	2		do.	milchige Trübung
5. 20 %	2	0	2′	Trübung	Trübung
	2	1		Flockung	b.Schütteln klar werdend
	2	2		1 grosser Flocken	

In dieser Serie wurden neben dem unverdünnten Glucoseserum durch steigende Wasserzusätze Verdünnungen bis zu a a gemacht, was den Gew.%-Gehalt an Glucose zunehmend herabsetzte. Zu den abgekühlten Glucosesera wurde Salpetersäure zugesetzt, um eventuell dadurch entstehende Veränderungen festzustellen.

Ergebnis: Bei allen verwendeten Glucosesera tritt eine Veränderung auf, z. T. nur geringgradig als Trübung, z. T. stärker als Flockenbildung und in kleinem deutlichen Zusammenhang mit der Verdünnung durch Wasser.

Das Verhalten gegen Salpetersäure, in einem Falle Trichloressigsäure, war auch überraschend, da dabei keine massive Ausfällung der Eiweisse stattfand wie zu erwarten war. In einem Kontrollversuch mit ungetrocknetem Glucoseserum wurde eine massive Ausfällung zu Stande gebracht.

II. Serie Nr. des Gluc.-serums	Gluc. serum in ccm	Zusätzl. Wassermenge in ccm	Dauer der Erhitzung im Wasserbad	Resultat nach Abkühlung
6 10 %	2	2	5 ′ auf 80 °	Farbänderung keine Trübung keine Flocken Nadel-tafelförmige Strukturen Gelatine
7 10,5 %	2	2		
8 15 %	2	2		
9 17,5 %	2	2		
10 20 %	2	2		

Ergebnis: Im Verhältnis des zunehmenden Gew. % an Glucose erfolgte eine Eindickung trotz Verdünnung mit Wasser. Bei Nr. 10 entstand direkt Gelatine.

Das wesentliche aber war, dass keine weitere Alteration im Sinne einer Ausfällung eintrat.

Es wurden nun, um das Auftreten dieser Gelisierung noch näher zu betrachten, mit obigen Glucosesera weitere Versuche unternommen mit verschiedenen Wasserzusätzen. Dieses Phänomen trat bei den bisherigen Versuchen durch Kochen auf der Flamme nie auf.

Nr. des Gluc. serums	Gluc. serum in ccm	Zusätzl. Wassermenge in ccm	Dauer der Erhitzung im Wasserbad	Resultat nach Abkühlung
6	2	0	5 ′	Starke Gelisierung
	2	0,5	auf	Klar
	2	1	80 °	Klar
	2	1,5		Klar
7	2	0	5 ′	Starke Gelisierung
	2	0,5		Klar-Tafelförmige Gebilde
	2	1		Eingedickt, schlierig
	2	1,5		Klar

Nr. des Gluc. serums	Gluc. serum in ccm	Zusätzl. Wassermenge in ccm	Dauer der Erhitzung im Wasserbad	Resultat nach Abkühlung
8	2	0	5'	Starke Gelisierung
	2	0,5		Klar; etwas sirupös
	2	2		Klar; nadelfeine Gebilde
	2	2,5		vereinzelte Nadeln
9	2	0	5'	Starke Gelisierung
	2	0,5		Klar; eingedickt
	2	1		Klar; eingedickt
	2	1,5		Schlierenbildung
10	2	0	5'	Starke Gelisierung
	2	0,5		Klar; flüssig
	2	1		Klar
	2	1,5		Klar

Ergebnis: Zusammenfassend ist zu bemerken, dass die Glucosesera ohne Wasserzusatz alle stark gelierten. Dieser Zustand ist irreversibel, wie sich beim Versuch der Wiederauflösung in warmem Wasser zeigte.

In den durch verschiedenen Gew. %-Gehalt an Glucose hergestellten Sera 6—10 zeigte sich weiter, dass eine Eindickung und Gelisierung zunahm mit dem grösseren Glucosegehalt. Es traten eigenartige Gebilde auf, z. T. nadelförmig, z. T. tafelförmig, sich durch ihre dichtere Konsistenz vom übrigen Milieu unterscheidend.

Die a a Verdünnung und die mit 1,5 ccm Wasserzusatz hat die besten Resultate ergeben und wir können daraus schliessen, dass ein Gew. %gehalt an Glucose von ungefähr 7,5—12,5 % der optimale wäre.

III. Serie: Diese wurde im Wasserbade 5' gekocht, also nicht bloss auf 80° erhitzt. Die gemessene Temperatur betrug 92—95°. Anschliessend wurden die gekochten Sera auf Zimmertemperatur langsam abgekühlt. Auch hier wurde wieder zunehmend mit Wasser verdünnt. Am Schlusse wurde speziell die Farbe der Lösungen beobachtet.

Nr. des Gluc. serums	Gluc. serum in ccm	Zusätzl. Wassermenge in ccm	Resultat nach Abkühlung	Farbe der Lösung nach Abkühlung
11 10 %	2	0,5	sirupös; Gelatinepartikel	Farbe unverändert
	2	1	wenig gelisierte Teile	
	2	1,5	klar; unverändert	
	2	2	unverändert	
12 12,5 %	2	0,5	klar; wenig gelisiert	Farbe unverändert
	2	1	klar, dünnflüssig	
	2	1,5	klar, unverändert	
	2	2	wenig gelatinöse Plättchen	
13 15 %	2	0,5	wenig gelatinös	Farbe unverändert
	2	1	nichts besonderes	
	2	1,5	wenig gelatinös	
	2	2	schwach gelatinös	
14 17,5 %	2	0,5	gelatinöse Partikel	Farbe unverändert
	2	1	wenig gelatinöse Partikel	
	2	1,5	klar, unverändert	
	2	2	" "	
15 20 %	2	0,5	gelatinöse Partikel	Farbe unverändert
	2	1	wenig gelatinöse Part.	
	2	1,5	gelatinöse Partikel	
	2	2	wenig gelisiert	

Ergebnis: Auch hier veränderte der Kochprozess z. T. den Dispersionsgrad, so dass gelatinöse Partikel auftraten und zwar in jeder Nr. mit zunehmender Wasserverdünnung weniger und im Vergleich der einzelnen Nr. mit zunehmendem Gew.%gehalt an Glucose mehr.

Nr. 17: davon wurde eine aufgelöste Probe die unverändert aussah mit a a Wasser verdünnt.

5' Kochen auf der Flamme bewirkte eine Eindickung, die nach Filtrierung eine dunkle Farbe zeigte. Dieses Filtrat wurde erneut in eine Platte gegossen und nach 2 24 Stunden aufgelöst, wobei grössere gelatinöse Flocken gebildet wurden.

IV. Serie (Nr. 18—20): Je 15 ccm von der 30 ccm betragenden Lösung wurden einmal unverdünnt, das andere Mal mit Wasser verdünnt gekocht und abgekühlt.

Nr. des Gluc. serums	Gluc. serum in ccm	Zusätzl. Wassermenge in ccm	Kochdauer	Resultat nach Abkühlung
18 7,5 %	15	0	5'	Trübung, Flocken
	15	15		einige Flocken
19 10 %	15	0	5'	Trübung
	15	15		schwache Trübung
20 12,5 %	15	0	5'	schwache Trübung
	15	15		do.

Ergebnis: Ein grosser Unterschied wurde nicht beobachtet, da ja wahrscheinlich die Trübung in der grösseren Masse des verdünnten Glucoseserums nicht so ersichtlich war.

V. Serie: Hier wird das Verhalten des Glucoseserums das 2 24 Stunden getrocknet wurde mit ansteigendem Gew.%gehalt an Glucose betrachtet. Es ist auch hier wie oben beim Kälberglucoseserum ein Versagen der Schutzwirkung der Glucose auf die Eiweisskörper bis zu einer gewissen Konzentration zu erwarten.

Nr. des Gluc. serums	Gluc. serum in ccm	Zusätzl. Wassermenge in ccm	Kochdauer	Resultat
21	5	5	auf der Flamme 5′	massive Fällung
22	5	5		do.
23	5	5		do.
24	5	5		do.
25	5	5		do.
26	5	5		do.
27	5	5		do.
28	5	5		do.
29	5	5		do.

Ergebnis: Innerhalb der hier angewandten Glucosekonzentrationen konnte die Ausfällung der Eiweisskörper nicht verhindert werden. Die Konzentration wurde durch den Wasserzusatz noch mehr herabgesetzt.

Betrachten wir nun die gleichen Sera ohne Wasserzusatz mit der ursprünglich aufgestellten Glucosekonzentration von 0,25 bis 6 Gew.%.

Nr. des Gluc. serums	Gluc. serum in ccm	Kochdauer	Resultat
21	5	5′	Massive Fällung
22	5		do.
23	5		do.
24	5		do.
25	5		do.
26	5		do.
27	5		do.
28	5		Flockenbildung
29	5		do.

Auch diese höheren Konzentrationen genügten noch nicht zur Stabilisierung.

Von Nr. 30—35 wurden grössere Qualitäten Trockenserum hergestellt ohne sie vorerst experimentel zu untersuchen.

Nr. des NaCl-serums	Menge in ccm	Zusätzl. Wassermenge in ccm	Kochdauer	Resultat nach Abkühlung
36	4	0	5′	weissl. massive Fällung
	4	4	5′	do.
37	4	0	5′	weissl. massive Fällung
	4	4	5′	do.

Diese 4 Versuche mit NaCl-trockenserum, deren Wiederauflösung klar war, ergaben beim Kochen eine deutliche Ausfällung, obwohl der Gew.% gehalt an NaCl 10, resp. 15 % betrug, was analog mit Glucoseserum nie ein solches Resultat ergab.

Von den 3×24 Stunden getrockneten Glucosesera Nr. 38 und 39 ergaben sich im Kochprozess folgende Resultate:

Nr. des Gluc. serums	Gluc. serum in ccm	Zusätzl. Wassermenge in ccm	Kochdauer	Resultat nach Abkühlung
38	4	0	5′	Klar, einige kl. Flocken
	4	4	5′	Kleine Flöckchen
39	4	0	5′	Klar, weniger Flocken
	4	4	5′	Klar

Die längere Trocknungszeit wirkte sich nicht überzeugend anders aus inbezug auf die Stabilität als die nur 24-stündige.

Von den 8×24 Stunden getrockneten Glucosesera Nr. 40 bis 50 sollen einige im Kochversuch geprüft werden.

Nr. des Gluc. serums	Nach der Auflösung	Glun. serum in ccm	Zusätzl. Wassermenge in ccm	Kochdauer	Resultat nach Abkühlung
40	Die Auflösung mit warmem Wasser gelang gut und gab klare Lösungen	5	0	5'	Keine Veränderung
42		5			do.
43		5			do.
46		5			do.
47		5			Gelatinöse Partikel
50		5			do.

Ergebnis: Die recht lange getrocknete Glucosesera zeigten sich im Kochversuch als sehr stabil, trat doch bei keinem eine Veränderung im Sinne einer Ausfällung ein. Nur Nr. 47 und 50 liessen Aenderungen im Dispersionsgrade erkennen.

Mit diesen Versuchen wurden die Untersuchungen abgeschlossen. Als Ergebnis konnten wir inbezug auf die einzelnen Punkte Folgendes festhalten.

1. **Optimaler Gew.-% zusatz an Glucose.**

Es zeigte sich, dass unter Berücksichtigung weiterer Faktoren wie Trocknungszeit und Verdünnung mit Wasser ein Zusatz von ca. 10,5 % Glucose optimal war. Die niedrigeren Zusätze ergaben regelmässig eine Ausfällung in Form eines massiven weißlichen Ausschlages. Die höheren Konzentrationen an Glucose hingegen neigten dazu, im Kochprozess sirupöse z. T. gelatinöse Veränderungen durchzumachen, allerdings ohne Ausfällung der Eiweisskörper. Da aber diese Dispersitätsänderungen irreversibel sind, fallen sie auch praktisch für eine Verwendung aus.

2. **Einfluss der Trocknungszeit.**

Die meisten Versuche wurden mit 24 Stunden altem Trockenserum angestellt, da die kleinen verwendeten Mengen in dieser Zeit genügend trockneten. Diese so hergestellten Trockensera zeigten aber schon die grosse Bedeutung des Trocknungsvorganges, dessen intimere Veränderungen wir nicht genauer erforschten, von dem wir aber annehmen dürfen, dass er erst die Stabilisierung der hitzeempfindlichen Eiweisskörper durch die

Glucose zu Stande bringt. Von längeren als 24-stündigen Trocknungszeiten ergaben sich noch bessere Resultate, immerhin wurde diese Frage nicht weiter untersucht.

3. **Weitere Verdünnung der aufgelösten Trockensera.**

Die meisten Trockensera wurden nach ihrer Auflösung weiter verdünnt bis maximal a a, was natürlich jeweils den Glucosegehalt reduzierte. Durch den Kochprozess erfolgte aber stets eine Wiedereindickung, wie wir natürlich nicht so genau verfolgten, die aber sicher nie unter die ursprüngliche verwendete Glucoseserummenge hinaus ging. Die a a Verdünnung erwies sich als die praktisch wertvollste.

4. **Einfluss der Erhitzung.**

Eine Reihe von Versuchen wurde im Wasserbade vorgenommen und langsam auf Temperaturen von 80° bis maximal 95° erhitzt. Diese Art der Erhitzung bewährte sich nicht so wie das Kochen auf der Flamm, das wir deshalb empfehlen möchten.

Zeitlich gingen wir nie über eine Kochdauer von 5 ' hinaus, weil die sonst verwendeten kleinen Versuchsmengen zu stark eingedickt worden wären. Immerhin haben sich grössere Mengen bei längerem Kochprozess nicht anders verhalten als obige Versuchsmengen.

5. **Wahl des zugesetzten kristallinen Stoffes.**

Aus leicht verständlichen Gründen wählten wir für die Herstellung von Trockensera im Hinblick auf deren spätere Verwendung als Ersatzflüssigkeit des menschlichen Blutes einen physiologischen Stoff wie die Glucose. Ein paar Versuche mit Kochsalz ergaben nicht deren Resultate, wobei aber gesagt sein muss, dass vielleicht weitere Versuche noch anders ausgefallen wären.

DRITTER TEIL

Versuche am Tier: (Kaninchen).

Nachdem wir in der Herstellung des Glucoseserums so weit waren, wurden die folgenden Tierversuche angestellt: In eine Ohrenvene von zwei Kaninchen wurden je 20 resp. 15 ccm eines steril zubereiteten Glucosetrockenserums vom Rind mit ca. 9,5

Gew.% Glucose eingespritzt. Die Injektion wurde gut vertragen und die Kaninchen lebten weiter ohne Störungen. Nach 18 Tagen wurden den gleichen zwei Tieren je 10 ccm des gleichen Serums reinjiziert. Wie wir erhofften, traten auch keine Spuren von Anaphylaxieerscheinungen auf.

Versuche mit tierischem Trockenserum am Menschen wurden von Prof. Lenggenhager ausgedehnt unternommen (13). Seine Resultate sind zusammengefasst erschienen unter dem Titel: „Eine praktische Lösung des Blutersatzes." (13)

Zusammenfassung:

Ausgangspunkt dieser Arbeit war eine Beobachtung Lenggenhagers beim Experimentieren mit Tierblut die ergab, dass menschliche Erythrocyten vom Serum eines Rindes nicht agglutiniert wurden. Diese Beobachtung gelang dann allerdings nicht mehr, sondern es zeigte sich, dass fast restlos eine Agglutination beim Zusammenbringen von Tiersera mit menschlichen r. B. K. eintrat. Der Gedanke, auf Grund des Ausgangsversuches im Tierreich Spender für menschlichen Blutbedarf zu finden, die sich analog den menschlichen Gruppengleichen Spendern verhalten würden, konnte so nicht verwirklicht werden. Die Untersuchungen boten uns aber eine Gelegenheit die tierische Blutgruppenkunde etwas zu beleuchten und Bekanntes aus Literatur mit selbst Gefundenem zu vergleichen.

Die Folge aus den obigen Ergebnissen war dann die Herstellung von Glucosetrockensera aus Tierblut, um auf diesem Wege, unter Umgehung des art-spezifischen Verhaltens für den praktischen Gebrauch am Menschen verwendbare Sera zu erhalten.

Die Ausschaltung dieser artspezifischen Eigenschaften im Serum gelang durch Erhitzung, wobei das Problem die wertvollen Eiweisskörper zu erhalten durch Hinzufügung von Glucose und anschliessendem Trockenprozess gelöst werden konnte. Die Glucose in Verbindung mit der Trocknung bewirkt eine eigenartige Stabilisation der Eiweisskörper in der Hitze. Die so gewonnenen Glucosetrockensera, die praktisch-technisch gegenüber den flüssigen Sera enorme Vorteile bieten, wurden in vielen Laboruntersuchungen hinsichtlich ihres Verhaltens geprüft, zuletzt im Tierversuch, wobei als Zeichen der Ausschaltung der Artspezifität keine Unverträglichkeitserscheinungen zu sehen waren.

Literatur

1. Handbuch der Blutgruppenkunde, herausgegeben von Dr. Paul Steffan
2. Witebsky E., Zbl. Immunforschung Bd. 49 1927, 1, 1—17 ebda 6, 525—31.
3. Hirszfeld u. Haller, Zbl. Immunforschung Bd. 59, 1928, 1 / 2, 17—51.
4. Brokman H., Zbl. Immunforschung Bd. 9, 1911, 87—116.
5. Ottenberg u. Trans. New York path. Soc. 11, 1911, 49.
6. Hirszfeld u. Haller, Zbl. Immunforschung Bd. 59, 1928, 1 / 2, 17—51.
7. Witebsky, Klin. Wochenschrift 1927, 1095.
8. Marek, Klin. Diagnose der inn. Krh. der Haustiere, 3. Auflage 1937.
9. Schermer, Deutsche tierärztliche Wochenschrift, 36. Jahrgang Nr. 48, 797—803.
10. Hirszfeld, C. v. Soc., biol. Paris, Bd. 84, 1923, 1360—61.
11. Schwarz, Zbl. Immunforschung Bd. 41, 1926, H 1, 79—96.
12. Landsteiner, Ref. Zbl. Bakt. I. Ref. Bd. 82, 1926, 253.
13. Lenggenhager, Zentralblatt für Chirurgie, 67. Jahrgang, Nr. 42, 1940.